

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

WILIAN CARLO DEMETRIO

OLIGOQUETOS (*Amyntas* spp.) E FITONEMATOIDES (*Meloidogyne javanica*):  
EFEITO SOBRE COMUNIDADE MICROBIANA DO SOLO E CRESCIMENTO DO  
TOMATEIRO

CURITIBA

2015

WILIAN CARLO DEMETRIO

OLIGOQUETOS (AMYNTHAS SPP.) E FITONEMATOIDES (MELOIDOGYNE  
JAVANICA): EFEITO SOBRE A COMUNIDADE MICROBIANA DO SOLO E  
CRESCIMENTO DO TOMATEIRO

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência do Solo.

Orientador: Prof. Dr. Jair Alves Dionísio

CURITIBA

2015

Demetrio, Wilian Carlo  
D377 Oligoquetos (*Amyntas* spp) e fitonematoides (*Meloidogyne javanica*): efeito sobre a comunidade microbiana do solo e crescimento do tomateiro / Willian Carlo Demetrio. - Curitiba, 2015.  
iii, 34 f. : il., grafs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Jair Alves Dionísio  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná.  
Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em  
Ciência do Solo.

1. Minhocas (Biologia do solo). 2. Fauna do solo. 3. Tomateiro.  
I. Dionísio, Jair Alves. II. Universidade Federal do Paraná. Setor de  
Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo.  
III. Título.

CDU 631.468.514.239:635.64



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO  
Mestrado e Doutorado



## PARECER

A Banca Examinadora designada para avaliar a defesa da Dissertação de Mestrado de **WILIAN CARLO DEMETRIO**, intitulada: "**Oligoquetos (*Amyntas spp.*) e fitonematóides (*Meloidogyne javanica*): Efeito sobre a comunidade microbiana do solo e crescimento do tomateiro**", do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, após análise do texto e arguição do candidato, emitem parecer pela "**APROVAÇÃO**" da referida Dissertação. O candidato atende assim um dos requisitos para a obtenção do título de **Mestre em Ciência do Solo - Área de Concentração Solo e Ambiente**.

Secretaria do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, em Curitiba, 24 de abril de 2015.

  
Prof. Dr. Jair Alves Dionísio, Presidente

  
Profª Dra. Tânia Beatriz Gamboa Araújo Morselli, Iº. Examinador

  
Profª Dra. Fabiane Machado Vezzani, IIº. Examinador

Aos meus pais, João (*in memoriam*) e Marlene, e meus irmãos, Junior e Renan pelo incentivo.

-

## **AGRADECIMENTOS**

A Universidade Federal do Paraná e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo pela oportunidade;

Ao meu orientador professor Jair Alves Dionísio, pela amizade, conhecimento e paciência;

Ao Arlei Maceda do CDME, sem o qual não seria possível realizar este trabalho;

Aos colegas do mestrado e doutorado, em especial a turma de 2013, pela companhia, ajuda e troca de conhecimentos;

A todos os professores e técnicos do Departamento de Solos;

A todos os profissionais do CDME;

A CAPES pela bolsa de estudos.



## RESUMO

As minhocas estão entre os seres mais representativos da fauna edáfica e devido ao seu hábito de vida influenciam uma gama de organismos do solo. O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de *Amyntas* spp. suprimir a população de fitonematoides parasitas e o impacto destes oligoquetos sobre a atividade biológica do solo e o reflexo no crescimento do tomateiro. O estudo foi realizado em casa de vegetação no Centro Diagnóstico Marcos Enrietti - UFPR, os tratamentos foram níveis de minhocas adultas do gênero *Amyntas*: 0, 2, 4, 6 e 8 animais vaso<sup>-1</sup>. Cada vaso recebeu sementes de tomate (var. Santa Cruz Kada Paulista), desbastados aos 14 dias após a emergência e inoculados com uma solução contendo 3.000 ovos e/ou juvenis de *M. javanica*. Durante a condução do experimento, foi avaliada a respiração edáfica (RE) em intervalos de aproximadamente 96h. Após a coleta do experimento, aos 91 dias, determinaram-se a massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), massa seca da planta (MSP) e número de galhas das raízes, carbono da biomassa microbiana (CBM), respiração microbiana (RMS) e o quociente metabólico do solo ( $qCO_2$ ). Os dados foram submetidos à análise de regressão entre as variáveis obtidas e os níveis de *Amyntas* spp. e correlação de Pearson. A inoculação de *Amyntas* spp. não suprime a formação de galhas no tomateiro, mas proporciona aumentos da massa seca da planta e massa seca da parte aérea, mesmo não havendo diferenças significativas para MSR. O aumento na liberação de  $CO_2$  em função dos níveis de minhocas inoculadas não afeta a respiração edáfica total. O CBM se eleva com os níveis de *Amyntas* spp. e atinge um ponto de máximo para 5,2 animais vaso<sup>-1</sup>, o  $qCO_2$ , diminui com a inoculação de *Amyntas* spp. e atinge um ponto de mínimo com 5 animais vaso<sup>-1</sup>. Não houve diferenças significativas para a RMS entre os tratamentos.

Palavras-chave: Carbono da biomassa microbiana. Respiração microbiana. Respiração edáfica.

## ABSTRACT

Earthworms are among the most representative beings of soil fauna and because of their living habits, influence a range of soil organisms. The objective of this study was to evaluate the ability of *Amyntas spp.* suppress the population of nematodes parasites and the impact of the earthworms on soil biological activity and your reflection in the tomato plant growth. The study was conducted in a greenhouse at the Diagnostic Center Marcos Enrietti - UFPR, c the treatments were levels of adult worms of the genus *Amyntas* vase<sup>-1</sup>. Each vase received tomato seeds (var. Santa Cruz Kada Paulista) thinned to 14 days after emergence and inoculated with a solution containing 3.000 eggs and/or juveniles of *M. javanica*. During the experiment, the soil respiration (RE) was performed at intervals of about 96h. After collection of the experiment 91 days, we determined the dry weight of shoot (MSPA), root dry mass (MSR), plant dry matter (MSP) and the number of root galls, microbial biomass carbon (CBM), microbial respiration (RMS) and metabolic quotient of soil (qCO<sub>2</sub>). The data were submitted to regression analysis between the obtained variables and levels of *Amyntas spp.* and Pearson correlation. The inoculation of *Amyntas spp.* not suppresses the formation of galls on tomato, but it provides increased plant dry matter and dry matter of shoots, even with no significant differences for MSR. The increase in the release of CO<sub>2</sub> depending on the inoculated earthworm levels does not affect the overall soil respiration. The MBC increased with levels of *Amyntas spp.* reaching a maximum point to 5.2 animals vase<sup>-1</sup>, the qCO<sub>2</sub> decreases with inoculation *Amyntas spp.* and reaches a minimum point to 5 animals vase<sup>-1</sup>. There were no significant differences for RMS between treatments.

Keywords: Microbial biomass carbon. Microbial respiration. Soil respiration.



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>13</b>
2.1 CARACTERIZAÇÃO GERAL .....	13
2.2 SOLO .....	13
2.3 ETAPA 1 - OBTENÇÃO DE INÓCULO DE <i>MELOIDOGYNE JAVANICA</i> .....	13
2.4 ETAPA 2.....	14
2.5 ANÁLISES BIOLÓGICAS.....	16
2.5.1 Respiração Edáfica (RE).....	16
2.5.2 Carbono da Biomassa Microbiana (CBM) .....	17
2.5.3 Respiração Microbiana do Solo (RMS) .....	18
2.5.4 Coeficiente Metabólico ( $qCO_2$ ) .....	19
2.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	19
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>21</b>
3.1 RESPIRAÇÃO EDÁFICA (RE) .....	21
3.2 CARBONO DA BIOMASSA MICROBIANA (CBM).....	23
3.3 RESPIRAÇÃO MICROBIANA DO SOLO (RMS).....	27
3.4 COEFICIENTE METABÓLICO ( $QCO_2$ ) .....	28
3.5 EFEITO DAS MINHOCAS SOBRE O CRESCIMENTO DAS PLANTAS.....	30
3.6 EFEITO DAS MINHOCAS SOBRE O SISTEMA RADICULAR E NÚMERO DE GALHAS DE <i>MELOIDOGYNE JAVANICA</i> .....	33
<b>4 CONCLUSÕES .....</b>	<b>36</b>
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>36</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>37</b>
<b>ANEXO 1 – TEMPERATURAS DO AR<sup>1</sup> E DO SOLO (°C) CORRESPONDENTES AO PERÍODO DE LEITURA DA RESPIRAÇÃO EDÁFICA .....</b>	<b>45</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As minhocas são seres edáficos, sendo descritas como integrantes dos Engenheiros do Ecossistema, grupo que representa os indivíduos capazes de alterar o ambiente em que vivem, chegando a representar até 80% da biomassa da fauna do solo (LAVELLE et al., 1997).

Segundo Derouard et al. (1997) e Ziegler e Zech (1992) as minhocas contribuem para a formação de macroagregados no solo, aumentando a estabilidade física, a aeração e a infiltração de água e melhoram as características químicas, já que participam da decomposição do material orgânico e em consequência alteram a ciclagem de nutrientes, o que está intimamente ligado com a atividade biológica. Sendo assim, consideradas um dos mais importantes seres edáficos (LAVELLE et al., 1997) e como são saprófitas, não representam efeito nocivo as raízes das plantas (BROWN, 1995).

O Brasil possui rica diversidade de minhocas, as nativas normalmente são endêmicas com exceção de poucas espécies, por exemplo, a *Pontoscolex corethrurus* considerada invasora oportunista. Dentro das minhocas exóticas algumas possuem grande representatividade em grande parte dos estados brasileiros, como as espécies *Amyntas corticis* e *A. gracilis* (BROWN et al., 2006).

As minhocas possuem hábito alimentar diversificado, variando entre detritívoras e geófagas (EDWARDS; BOHLEN, 1996), sendo esta última responsável pelo deslocamento espacial de partículas orgânicas e minerais dentro do perfil do solo, alterando assim a disponibilidade de alimento para outros seres, principalmente a comunidade microbiana do solo (BROWN et al., 2000).

Estes seres também são responsáveis por modificar as populações de micro-organismos do solo, usualmente denominados como biomassa microbiana do solo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006), devido às alterações físicas, pela abertura de galerias que alteram as concentrações do O<sub>2</sub> em profundidade, químicas e biológicas pelas transformações que ocorrem no solo durante a passagem pelo trato digestivo, alterando a concentração de alguns nutrientes e selecionando grupos da comunidade microbiana (EDWARDS; BOHLEN, 1996).

O monitoramento da biomassa microbiana do solo (BMS) é um importante indicador da qualidade do solo já que é formada por células vivas e, consequentemente, modifica-se mais rapidamente se comparada às características

físico-químicas (POWLSON; BROOKES; CHRISTENSEN, 1987). Entre os métodos mais utilizados para acompanhar as alterações que ocorrem na microbiota do solo destacam-se o carbono da biomassa microbiana, a respiração edáfica e a respiração microbiana (ZIBILSKÉ, 1994).

O carbono da biomassa microbiana (CBM) representa parte do total de carbono do solo descrita como viva, excluindo-se as raízes e a fauna do solo. A respiração edáfica (RE) é a quantidade de CO<sub>2</sub> liberado pelo processo bioquímico da respiração dos micro-organismos, das raízes e dos animais presentes no ambiente edáfico. Já a respiração microbiana ou respiração basal compreende o CO<sub>2</sub> evoluído apenas pelos micro-organismos do solo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Além das alterações sobre a comunidade microbiana, as minhocas são capazes de interagir com uma grande diversidade de organismos, principalmente com os menores indivíduos da fauna edáfica, pois estes acabam sendo ingeridos devido ao hábito alimentar destes oligoquetos (EDWARDS; BOHLEN, 1996). Os nematoides representam uma grande parcela da microfauna do solo, onde o gênero *Meloidogyne* é caracterizado como fitonematoide devido ao seu hábito alimentar, descrito como parasita de plantas. A infecção nas plantas ocorre pelo sistema radicular e pode ser observado pela formação de tumores, denominados como galhas (MEDINA et al., 2006).

Como o dano causado pelos fitonematoides traz enormes perdas econômicas, torna-se necessário o controle destes seres, pela redução da população no solo, garantindo a menor infestação das raízes. Diversas técnicas culturais como a utilização de plantas não hospedeiras em rotação de culturas e a solarização são empregadas, porém, a eficácia destas é reduzida, devido à grande capacidade de sobrevivência destes animais (RADWAN et al., 2012; MÔNACO et al., 2008). Outra possibilidade para o controle de nematoides edáficos é a utilização de nematicidas químicos, no entanto, estes além terem um alto custo são passíveis de contaminação do solo e meio ambiente e não podem ser utilizados em sistemas de produção orgânica (ZUKERMAN; ESNARD, 1994; NEVES et al., 2009).

Dentre as plantas cultivadas, o tomate (*Lycopersicum esculentum*) é uma das hortaliças mais produzidas no Brasil e no mundo, e neste cenário o Paraná é o 4º maior produtor nacional (CHAVES, 2006). Essa cultura é sensível ao ataque de nematoides, sendo que o prejuízo na produção varia de 14 a 44 % devido à perda parcial da função das raízes (CHARCHAR; ARAGÃO, 2005; BELAN et al., 2011).

O efeito das minhocas na supressão dos nematoides ainda é pouco estudado. Lafont et al. (2007) ao estudar a interação entre oligoquetos do gênero *Pontoscolex* e fitonematoides do gênero *Rodopholus* observaram que a presença de minhocas, apesar de não reduzir o número de nematoides no sistema radicular da bananeira, proporcionaram melhor desenvolvimento das plantas. Entretanto, alguns trabalhos mostram resultados significativos, tais como: grande redução na população de nematoides em sistema de vermicompostagem com a utilização de minhocas do gênero *Eisenia* (DOMÍNGUEZ; PARMELEE; EDWARDS, 2003). Em solos de coníferas, minhocas do gênero *Dendrobaena* e *Lumbricus rubellus* foram capazes de reduzir substancialmente as populações de nematoides (HYVÖNEN et al., 1994; RÄTY; HUHTA, 2003). Makulec e Makulec (2002) citam redução em até 51% da fauna destes animais no solo com adição de quantidades crescentes de *Lumbricus rubellus*.

No Brasil, um estudo realizado por Dionísio et al. (2014) usando minhocas do gênero *Amyntas* e nematoides (*Meloidogyne paranaensis*) apresentou redução superior a 50% do número total de galhas em raízes de tomate.

O controle biológico de nematoides pela ação das minhocas pode ocorrer no momento da passagem do solo contaminado com ovos, juvenis e adultos pelo tubo digestivo das minhocas, onde a trituração e ataque das enzimas digestivas pode indiretamente destruir estes parasitas (EDWARDS; FLETCHER, 1988).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de *Amyntas spp.* suprimir a população de fitonematoides parasitas e o impacto destes oligoquetos sobre a atividade biológica e o reflexo no crescimento do tomateiro.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 CARACTERIZAÇÃO GERAL

O experimento foi realizado em ambiente protegido no Centro Diagnóstico Marcos Enrietti (CDME), localizado no Setor de Ciências Agrárias – UFPR (Curitiba – PR). A pesquisa foi dividida em duas etapas, sendo denominadas como: Etapa 1 e Etapa 2, descritas adiante nesta seção.

### 2.2 SOLO

O solo utilizado nas duas etapas foi coletado na Fazenda Experimental Canguiri (0 – 20 cm), Quatro Barras-PR e corresponde à unidade taxonômica Cambissolo Háplico, de textura Franco-argilosa (EMBRAPA, 2013). Inicialmente, o solo foi peneirado em malha de 4 mm e esterilizado em forno a vapor (aproximadamente 100 °C) durante três horas, para eliminação de todas as formas de vida. Após o resfriamento, o solo foi acondicionado em sacos plásticos de polietileno.

Decorrido um período de 30 dias, uma amostra composta do solo foi retirada para análise química realizada segundo Marques e Motta (2003), que apresentou os seguintes atributos: pH  $\text{CaCl}_2$  5,70; Ca 8,40  $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ; Mg 4,80  $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ; K 1,07  $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ; P 43,90  $\text{mg dm}^{-3}$ ; C 33,3  $\text{g dm}^{-3}$ ; V% 76, e física: areia 420  $\text{g kg}^{-1}$ , silte 305  $\text{g kg}^{-1}$  e argila 275  $\text{g kg}^{-1}$  de solo obtida pelo método do decímetro (Embrapa, 2011). A capacidade de retenção de água de 70% foi estimada conforme Monteiro e Frighetto (2000).

### 2.3 ETAPA 1 - OBTENÇÃO DE INÓCULO DE *Meloidogyne javanica*

Mudas de tomate (*Lycopersicon esculentum*, var. Santa Cruz Kada Paulista), cultivadas no CDME, foram produzidas em copos de polipropileno contendo substrato comercial (Mecplant®) de casca de pinus bioestabilizado homogeneizado (malha de 2 mm), sem adição de fertilizantes e previamente esterilizado. Aos 14 dias após a emergência, foram transplantadas para vasos plásticos de polietileno com capacidade para 4 L, contendo 3 kg de solo, e imediatamente inoculadas com uma

solução aquosa contendo ovos e/ou juvenis (sem contagem) do fitonematoide *Meloidogyne javanica*. As plantas permaneceram por um período aproximado de 180 dias, tempo necessário para a formação das galhas, com elevada concentração de nematoides.

## 2.4 ETAPA 2

O experimento correspondente à segunda fase da pesquisa foi instalado em 01/08/2014 no ambiente protegido do CDME e coletado em 31/10/14, totalizando 91 dias de condução.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, e os tratamentos foram 0, 2, 4, 6 e 8 minhocas do gênero *Amyntas* vaso<sup>-1</sup>, correspondendo a 0, 60, 120, 180 e 240 animais m<sup>-2</sup>, respectivamente, com cinco repetições. As unidades experimentais foram representadas por vasos de polietileno, com capacidade para 4 L, contendo 3 kg de solo, nas quais inicialmente foram inoculadas as minhocas. Os animais adultos, caracterizados pela presença de clitelo (estrutura reprodutiva), foram coletados manualmente, nas dependências do Departamento de Solos e Engenharia Agrícola, Setor de Ciências Agrárias - UFPR, Curitiba-PR, sendo estes caracterizados, em nível de gênero, pela morfologia externa, conforme Sims e Gerard (1985).

As minhocas foram previamente lavadas em água deionizada e secas em papel toalha, e a biomassa total (TABELA 1) aferida por tratamento/repetição em balança de precisão (centésimo de grama). No período da manhã, na presença de luz solar, as minhocas foram inoculadas na superfície dos respectivos vasos e, imediatamente, entraram no solo, em função do seu caráter lucífugo. Após, aproximadamente 15 minutos, tempo necessário para os animais movimentarem-se para a subsuperfície do solo, cada unidade experimental foi coberta com tela de tecido não tecido (TNT). A cobertura das unidades experimentais permaneceu por dez dias, no período denominado de ambientação e teve por objetivo evitar a fuga das minhocas, identificar as mortes e quando necessária, assegurar a reposição dos animais.



TABELA 1 – NÚMERO E MASSA FRESCA DE MINHOCAS INOCULADAS NOS DIFERENTES TRATAMENTOS.

Níveis de minhocas vaso <sup>-1</sup>	Repetições					Média animal <sup>-1</sup>
	Biomassa (g)					
0	0	0	0	0	0	0
2	2,11	2,74	2,78	2,76	2,74	1,31
4	5,48	4,6	5,08	4,43	5,29	1,24
6	6,28	6,82	9,58	7,93	8,25	1,30
8	9,04	10,25	9,18	9,79	9,15	1,19

FONTE: O autor (2015).

O tomate (var. Santa Cruz Kada Paulista) foi semeado diretamente nos vasos, sendo desbastado 14 dias após a emergência, mantendo-se apenas uma planta vaso<sup>-1</sup>.

A inoculação dos nematoides ocorreu três dias após o desbaste. Cada vaso recebeu uma suspensão aquosa contendo 3.000 ovos e/ou juvenis de *M. javanica* resultantes da Etapa 1, a qual foi obtida segundo a metodologia de Bonneti e Ferraz (1981). As raízes contaminadas com *M. javanica* foram trituradas em liquidificador na presença de uma solução de hipoclorito de sódio (0,5 %), após tamisadas em peneiras de 0,075 e 0,025 mm e o residual levado a contagem em microscópio óptico (aumento de 25 vezes), que apresentou densidade de 870 ovos e/ou juvenis mL<sup>-1</sup>. Cada unidade experimental foi inoculada com 3,5 mL da solução contendo *M. javanica*, distribuída em três orifícios a 1,0 cm de distância do caule das plantas.

Durante o cultivo do tomateiro, foram realizadas irrigações diárias e os tratos culturais de desbrotas e a adubação nitrogenada em cobertura, segundo a CQFS-RS/SC (2004).

A temperatura do ar em intervalos diários foi obtida no Sistema Meteorológico do Paraná – Simepar, localizado no Centro Politécnico – UFPR (Curitiba – PR) e a temperatura do solo de cada unidade experimental monitorada em intervalos de  $\pm 4$  dias, com auxílio de termômetro digital (modelo TP-101).

No final do experimento, a parte aérea das plantas foi cortada a 1,0 cm acima da superfície do solo, e imediatamente transferida para estufa a 65 °C até obtenção da massa constante e determinação da massa seca em balança de precisão (centésimo de grama).

As minhocas remanescentes foram coletadas de cada vaso por catação manual, sendo posteriormente lavadas em água deionizada, contadas e aferidas a biomassa fresca. Após este procedimento, foram coletadas aproximadamente 400 g de solo unidade experimental<sup>-1</sup> e, armazenadas em câmara fria (2 a 4 °C) para posteriores análises do carbono da biomassa microbiana e da respiração microbiana.

As raízes foram separadas do solo com o auxílio da água corrente e mantidas em estufa do tipo DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio) a 2 - 4 °C para conservação dos tecidos vegetais, permanecendo até a contagem do número de galhas planta<sup>-1</sup>, que foi efetuada com auxílio de microscópio estereoscópico (aumento de 4 vezes), sem a utilização de corantes. Após o último procedimento, as raízes foram transferidas para estufa a 65 °C e, posteriormente, à balança de precisão (centésimo de grama) para determinação da massa seca.

## 2.5 ANÁLISES BIOLÓGICAS

### 2.5.1 Respiração Edáfica (RE)

A respiração edáfica, iniciada no dia subsequente ao desbaste das plantas, foi determinada segundo a metodologia de Grisi (1978) adaptada. Para este fim, cada vaso recebeu uma câmara plástica com as seguintes especificações: altura 9,5 cm, diâmetro superior 5,5 cm, diâmetro inferior 7,3 cm, área 41,83 cm<sup>2</sup> e volume de 300 mL, e um conjunto composto por um suporte de madeira (palito de espetinho, com 15 cm de comprimento e 4 mm de diâmetro) e um recipiente plástico de 50 mL.

O suporte de madeira foi fixado na superfície do solo (FIGURA 1) a profundidade aproximada de 2,0 cm, no qual foi colocado um recipiente plástico (copo descartável de polipropileno de 50 mL) contendo 10 mL de NaOH ( $\cong 0,5$  N) substituído a cada leitura, com a finalidade de captar o CO<sub>2</sub> proveniente da respiração das raízes, dos micro-organismos e das minhocas. A câmara plástica foi acoplada sobre o conjunto e inserida no solo a 1,0 cm de profundidade, a fim de reduzir as perdas de CO<sub>2</sub> da área determinada.

A respiração edáfica foi estimada por titulação das amostras com HCl ( $\cong 0,5$  N), adicionando-se 1,0 mL de BaCl<sub>2</sub> (50%) e duas gotas de fenolftaleína (0,1%)

como indicador, a cada 96 h aproximadamente, totalizando 12 leituras no decorrer do experimento.

A quantidade do C-CO<sub>2</sub> emitido por unidade de superfície foi calculada de acordo com a equação proposta por Anderson (1982).

$$RE = ((B - V).N.E)/(A.T)$$

Onde:

RE = Respiração Edáfica expressa em  $\mu\text{g C-CO}_2 \text{ cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$ ;

B = volume em mL de HCl gasto na prova em branco (controle);

V = volume em mL de HCl gasto na amostra exposta ao solo;

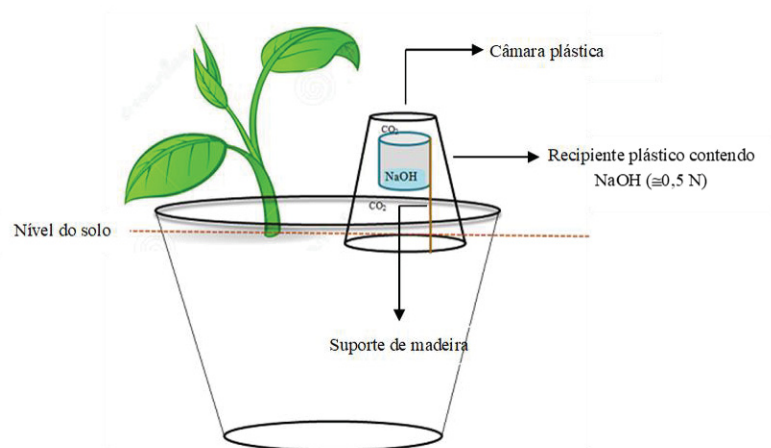
N = normalidade do HCl;

E = equivalente-grama do carbono;

A = área em  $\text{cm}^2$  da superfície do solo amostrada;

T = tempo de incubação em horas.

FIGURA 1 – ESQUEMA DE CAPTAÇÃO DE CO<sub>2</sub> EM VASO.



### 2.5.2 Carbono da Biomassa Microbiana (CBM)

O CBM foi determinado pelo método da Respiração Induzida pelo Substrato (RIS) descrito por Anderson e Domsch (1978). Para cada amostra foram pesados o equivalente a 50 g de solo seco em duplicata, e transferidas para recipientes

plásticos de polipropileno com capacidade de 1000 mL. Posteriormente, adicionou-se uma solução aquosa, representada pela quantidade necessária para elevar a umidade a 60% da capacidade de retenção de água do solo, acrescida de 60 mg de glicose. Os recipientes foram fechados e as amostras pré-incubadas por um período de duas horas em estufa a 25 °C. Após esta etapa, as amostras receberam um copo plástico contendo 10 mL de NaOH  $\cong$  0,5 N e foram incubadas, nas mesmas condições, por mais 4 horas. Finalizado o período de incubação os frascos contendo hidróxido de sódio receberam 1,0 mL de BaCl<sub>2</sub> (50%) e foram tituladas com HCl  $\cong$  0,5 N, utilizando-se fenolftaleína como indicador. O CBM foi estimado segundo Anderson e Domsch (1978) descrito por Höper (2006).

$$\text{CBM} = 30. (B - A).((N.22.1000)/(1,8295. \text{MSS}.4))$$

Onde:

CBM = Carbono da biomassa microbiana expressa em  $\mu\text{g C g}^{-1}$  de solo seco;

30 = constante ( $\text{mg C}_{\text{mic}} \text{ h mL CO}_2^{-1}$ );

B = volume em mL de HCl gasto na prova em branco (controle);

A = volume em mL de HCl gasto na amostra exposta ao solo;

N = normalidade do HCl;

E = equivalente-grama do carbono;

22 = fator de conversão (1 mL HCl 1M corresponde a 22 mg de CO<sub>2</sub>);

1000 = fator de conversão de kg de solo pra g de solo;

1,8295 = densidade do CO<sub>2</sub> a 22 °C;

MSS = massa de solo seco.

4 = fator de conversão de 4h para 1h.

### 2.5.3 Respiração Microbiana do Solo (RMS)

A RMS foi determinada conforme Alef (1995), em sistema estático modificado, utilizando-se frascos de polipropileno com capacidade de 1000 mL. Assim, foi adicionado o equivalente a 50 g de solo seco de cada amostra, em duplicata e a umidade elevada para 60 % da capacidade de retenção de água do solo. Os recipientes plásticos receberam um tubo de ensaio, contendo 10 mL de água deionizada, com a finalidade de manter a umidade no interior e evitar o

ressecamento da amostra, e um copo plástico de polietileno de 50 mL contendo 10 mL de NaOH  $\cong 0,5$  N. O conjunto foi incubado a 25 °C por aproximadamente de 168 h e o excesso de NaOH titulado com HCl  $\cong 0,5$  N, com a adição prévia de 1 mL de BaCl<sub>2</sub> (50%) e duas gotas de fenolftaleína 0,1% como indicador.

Para a estimativa da respiração microbiana foi utilizada a fórmula a seguir, segundo Stotzky (1965):

$$RMS = ((B - V).N.E.1000)/(MSS.H)$$

Onde:

RMS = respiração microbiana do solo expressa em  $\mu\text{g C-CO}_2 \text{ g}^{-1}$  de solo seco  $\text{h}^{-1}$ ;

B = volume em mL de HCl gasto na prova em branco (controle);

V = volume em mL de HCl gasto na amostra exposta ao solo;

N = normalidade do HCl;

E = equivalente-grama do carbono;

MSS = massa de solo seco;

H = horas de incubação.

#### 2.5.4 Coeficiente Metabólico ( $q\text{CO}_2$ )

O coeficiente metabólico foi calculado pela relação dos valores de CBM e RMS conforme descrito por Anderson e Domsch (1993), da mesma amostra, ou seja,  $q\text{CO}_2 = \text{RMS}/\text{CBM}$ . Este parâmetro leva em consideração que a menor evolução de  $\text{CO}_2$  por unidade de tempo representa uma maior eficiência da comunidade microbiana em fixar o C em seus tecidos.

## 2.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados das variáveis analisadas foram submetidos ao teste de valor extremo (Grubbs) para a detecção de *outliers*. Posteriormente, verificou-se a normalidade dos erros pelo teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade da variância pelo teste de Bartlett. Para todas as variáveis foi realizada a análise de Correlação de Pearson e Regressão ( $p < 0,05$ ). A escolha do modelo foi baseada na significância dos

coeficientes de regressão e no maior valor do coeficiente de determinação. Os programas utilizados foram o ASSISTAT® 7.6 e o SIGMAPLOT® 11.0.



### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 RESPIRAÇÃO EDÁFICA (RE)

A RE avaliada em função dos níveis de minhocas apresentou comportamento linear em grande parte das leituras (6/11), o que pode ser observado na TABELA 2, demonstrando alta correlação significativa com o número de *Amyntas* vaso<sup>-1</sup>. Este acréscimo na RE pode ser atribuído a vários fatores, entre eles a melhoria das trocas gasosas no sistema solo-atmosfera que aumentam o fluxo de O<sub>2</sub>, conseqüentemente, facilitando a respiração das raízes em função das galerias construídas com a atividade das minhocas (LI et al., 2002). Além disso, a presença destes animais também estimula a atividade dos micro-organismos do solo (SIMEK; PIZL, 2010) que podem contribuir com mais de 70% do CO<sub>2</sub> total da RE (ZHAO et al., 2013).

TABELA 2 - EQUAÇÕES REFERENTES À ANÁLISE DE REGRESSÃO DA RESPIRAÇÃO EDÁFICA COM DIFERENTES NÍVEIS DE MINHOCAS (*AMYNTHAS SPP.*) NA PRESENÇA DE FITONEMATÓIDES (*MELOIDOGYNE JAVANICA*) SOB CULTIVO DO TOMATEIRO (*LYCOPERSICON ESCULENTUM*, VAR. SANTA CRUZ KADA PAULISTA).

Datas	Leitura nº	Equação	R	CV %
12/09/2014	1	$y = 20,20 + 0,60x$	0,90**	10,22
15/09/2014	2	$y = 19,48 + 0,75x$	0,98**	9,05
19/09/2014	3	ns	ns	13,53
24/09/2014	4	ns	ns	12,07
28/09/2014	5	$y = 19,44 + 1,23x$	0,89*	8,00
02/10/2014	6	$y = 23,53 + 0,42x$	0,95*	10,16
06/10/2014	7	ns	ns	13,70
10/10/2014	8	$y = 35,48 + 0,38x$	0,83**	5,06
14/10/2014	9	ns	ns	9,60
19/10/2014	10	ns	ns	13,53
25/10/2014	11	$y = 60,65 - 4,38x$	0,95**	8,98

FONTE: O autor (2015).

LEGENDA: \*\*, \* Significativo a 1 e 5 % de probabilidade, respectivamente, ns Não Significativo.

O acréscimo na liberação de CO<sub>2</sub> pode ter ocorrido pela ação das minhocas no ambiente edáfico, efeito confirmado por Simek e Pizl (2010) que observaram aumento na evolução de CO<sub>2</sub> do solo na ausência de plantas, com a inoculação de *Aporrectodea caliginosa*, minhoca de hábito endogeico (vive em subsuperfície e

geófaga) e atribuíram este efeito ao estímulo dos micro-organismos. *Amyntas spp.* possui hábitos semelhantes a *A. caliginosa*, são consideradas minhocas epi-endogeicas (vivem em subsuperfície, mas frequentemente sobem a superfície e são geófagas) e em condições normais vivem entre 3 a 10 cm de profundidade no solo (SELDEN et al., 2005). Este aumento na liberação de CO<sub>2</sub> pode ter ocorrido pelo estímulo dos micro-organismos em profundidade (SIMEK e PIZL, 2010), que possuem baixa atividade comparados aos que habitam os primeiros centímetros do solo (SANTOS et al., 2004).

O estímulo sobre a comunidade microbiana é conhecido como “o paradoxo da bela adormecida” e ocorre quando os micro-organismos, principalmente bactérias, são “despertos” durante a passagem pelo trato digestivo das minhocas, devido ao muco liberado pelas mesmas durante o processo digestivo (BROWN et al., 2000), pois, a maior parte da biomassa microbiana do solo encontra-se normalmente em inatividade devido a ausência compostos orgânicos prontamente disponíveis (NANNIPIERI et al., 2003).

Os resultados observados neste trabalho mostram que há tendência de aumento na RE em função da elevação dos níveis de minhocas vaso<sup>-1</sup>, embora, não exista diferença significativa em todas as leituras ( $\alpha = 0,05$ ). Este comportamento é explicado pela variação das temperaturas do ar e do solo durante a condução do experimento, respectivamente, (FIGURA 2 e ANEXO 1), que podem afetar a atividade metabólica de todos os indivíduos integrantes no processo.

As altas e as baixas temperaturas afetam os micro-organismos. Pietikainen, Pettersson e Baatt (2005) avaliando este efeito sobre a comunidade de fungos e bactérias observaram que a variação de 0 °C a 25 °C elevou 25 vezes a atividade metabólica destes seres. Balser e Wixon (2009) citam que a temperatura ótima para desenvolvimento dos micro-organismos do solo varia conforme os locais de estudo, ao compararem três ecossistemas, sob climas específicos, encontraram valores ideais para o metabolismo da Biomassa Microbiana do Solo (BMS) variando entre 23 a 29 °C.

O acréscimo na RE se manteve durante os 32 primeiros dias (1 - 8ª leitura), após percebeu-se a inversão de comportamento, sem diferença significativa ( $\alpha = 0,05$ ), exceto na 11ª leitura ( $\alpha = 0,01$ ), na qual os maiores níveis de minhocas atingiram valores inferiores de RE (FIGURA 2). Resultado que provavelmente ocorreu pela contribuição das minhocas na formação de agregados (MARHAN et al.,

2007) que protege a matéria orgânica do solo (MOS) do ataque dos micro-organismos (SOLLINS; HOMANN; CALDWELL, 1996). Mummey, Rillig e Six (2006) observaram, aumento de 30% na formação de macroagregados com a inoculação de *A. caliginosa* em comparação ao solo controle.

A formação de agregados na presença de minhocas ocorre em função da produção de coprólitos, massa de solo que passa pelo trato digestivo destes animais (BOSSUYT; SIX; HENDRIX, 2004), principalmente dos oligoquetos, como *Amyntas spp.*, que depositam estes excrementos dentro do solo (SNYDER; BOOTS; HENDRIX, 2009), os quais podem somar de 1,5 a 2.600 Mg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> dependendo das condições locais (BAL, 1982; LEE, 1985).

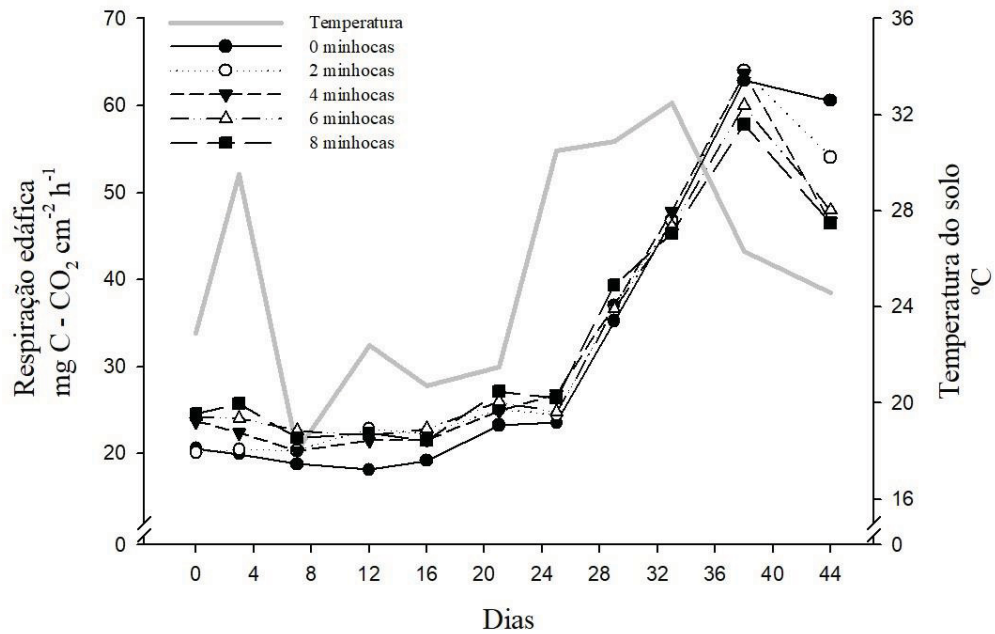
A taxa de remanescência das minhocas, (39 %), ao final do experimento (91 dias) foi inferior a encontrada por Stephen e Davoren (1997) e Du et al. (2014), que encontraram valores acima de 70%. Esta baixa remanescência pode também ter influenciado as alterações observadas na RE, pois, a fuga e/ou morte destes animais provavelmente ocorreu entre a 8ª e a 11ª leitura, onde foram observadas as maiores temperaturas do solo (ANEXO 1). Para *Amyntas gracilis* a temperatura ideal está entre 21 – 26 °C (SELDEN et al., 2005). Associada as altas temperaturas, a baixa umidade do solo promove o ressecamento da epiderme destes animais, dificultando a respiração (EDWARDS; FLETCHER, 1988). Como na presente pesquisa a umidade do solo foi corrigida diariamente, a temperatura interna dos vasos tornou-se o fator limitante para a sobrevivência das minhocas no experimento.

A respiração edáfica total (FIGURA 3) não diferiu estatisticamente entre os tratamentos ( $\alpha = 0,05$ ).

### 3.2 CARBONO DA BIOMASSA MICROBIANA (CBM)

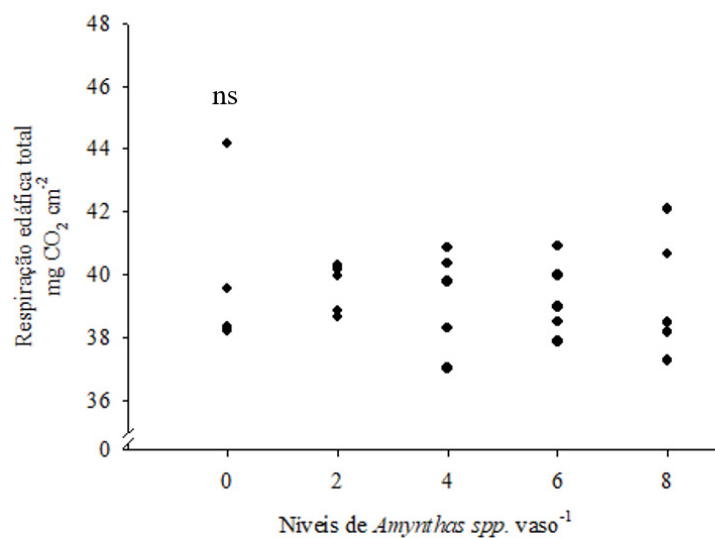
O CBM, avaliado no final do experimento, aos 91 dias, apresentou comportamento quadrático (FIGURA 4) em função dos níveis de minhocas adicionadas ao solo. O tratamento T4 apresentou o maior valor de CBM 1582,8 µg C g<sup>-1</sup> de solo seco, e o menor valor, 748,5 µg C g<sup>-1</sup> de solo seco, foi observado no T1. A análise de regressão revelou um ponto máximo para CBM de 1547,4 µg C g<sup>-1</sup> de solo para o nível de 5,2 minhocas vaso<sup>-1</sup>, a partir do qual ocorre redução em função da elevação do nível de minhocas vaso<sup>-1</sup>.

FIGURA 2 – FLUTUAÇÃO DA RESPIRAÇÃO EDÁFICA COM DIFERENTES NÍVEIS DE MINHOCAS VASO<sup>-1</sup> (*Amyntas spp.*) NA PRESENÇA DE FITONEMATOIDES (*Meloidogyne javanica*) SOB CULTIVO DO TOMATEIRO (VAR. SANTA CRUZ KADA PAULISTA).



FONTE: O autor (2015).

FIGURA 3 – ANÁLISE DE REGRESSÃO DA RESPIRAÇÃO EDÁFICA ACUMULADA E NÍVEIS DE MINHOCAS (*Amyntas spp.*) VASO<sup>-1</sup> NA PRESENÇA DE FITONEMATOIDES (*Meloidogyne javanica*) SOB CULTIVO DO TOMATEIRO (*Lycopersicon esculentum*, VAR. SANTA CRUZ KADA PAULISTA).

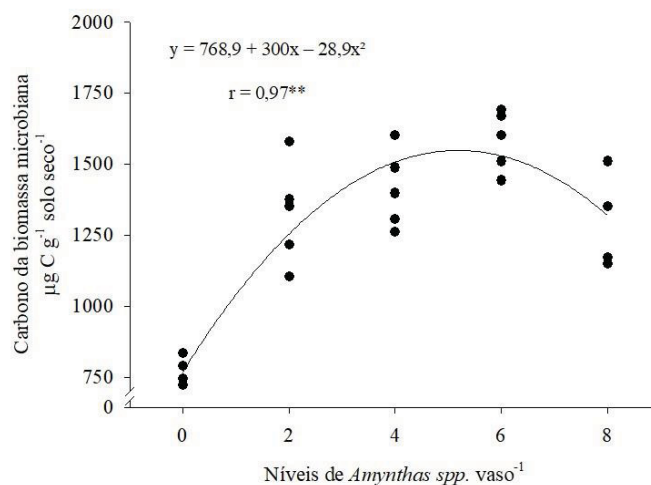


FONTE: O autor (2015).

LEGENDA: ns não significativo

Os valores de CBM são características intrínsecas de cada solo e variam conforme os teores de matéria orgânica, clima, tipo de solo e composição da comunidade microbiana (FRANCHINI et al., 2007). A inoculação de apenas duas minhocas vaso<sup>-1</sup> causou aumento superior a 75 % do CBM quando comparado ao tratamento sem adição. Estes resultados também foram observados por Burtelow et al. (1998) avaliando a invasão de *Aporrectodea sp.* em florestas no nordeste dos Estados Unidos, mesmo em baixas densidades (50 – 100 indivíduos m<sup>-2</sup>), causaram acréscimo de 1,4 vezes na BMS, quando comparada aos locais sem a presença destes animais. Resultados similares, aos obtidos no tratamento T4 (com adição de seis minhocas vaso<sup>-1</sup>) foram encontrados por Al-Maliki e Scullion (2013), com a inoculação *Lumbricus terrestris* em comparação ao tratamento controle.

FIGURA 4 - ANÁLISE DE REGRESSÃO DO CARBONO DA BIOMASSA MICROBIANA DO SOLO E NÍVEIS DE MINHOCAS (*Amyntas spp.*) VASO<sup>-1</sup> NA PRESENÇA DE FITONEMATOIDES (*Meloidogyne javanica*) SOB CULTIVO DO TOMATEIRO (*Lycopersicon esculentum*, VAR. SANTA CRUZ KADA PAULISTA).



FONTE: O autor (2015).

LEGENDA: \*\* Significativo a 1 % de probabilidade

Provavelmente a elevação do CBM observada ocorreu devido ao aumento das concentrações de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> dos coprólitos, 5 a 15 vezes superiores ao solo adjacente (DECAËNS et al., 1999), presentes nos tratamentos que receberam esses animais. Estas concentrações variam conforme o hábito alimentar das minhocas (geófagas ou detritívoras) e a qualidade do material ingerido (AIRA; MONROY; DOMINGUEZ, 2003) e estimulam o aumento da população de micro-organismos. O

nitrogênio é um dos principais nutrientes limitantes para o desenvolvimento da BMS (HARTMAN; RICHARDSON, 2013), consequentemente, a comunidade de micro-organismos acompanha a flutuação deste nutriente (HUANG et al., 2013).

Além dos coprólitos, as galerias formadas pelas minhocas também representam grande fonte de nitrogênio para a comunidade microbiana. Parkin e Berry (1999) observaram que na drilosfera (área compreendida entre 1-2 mm de distância da parede das galerias) os teores de  $\text{NO}_3^-$  eram  $26,6 \mu\text{g N g}^{-1}$ , enquanto no solo, apenas  $18,8 \mu\text{g N g}^{-1}$ , efeito causado pelo muco rico em açúcares, de baixo peso molecular, excretado pelas minhocas durante a movimentação (BROWN et al., 2000). A quantidade de galerias formadas pelas minhocas varia com a espécie estudada, Pérèz et al. (2010) observaram que estes animais podem gerar de 320 até 528 galerias  $\text{m}^{-2}$  em apenas sete cm de profundidade.

Este aumento do CBM na presença de minhocas também foi observado por Li et al. (2002), que atribuíram este efeito a redistribuição de recursos em profundidade, por exemplo, matéria orgânica e  $\text{O}_2$ , aumentando a disponibilidade para os micro-organismos causando acréscimo na BMS.

Neste trabalho, o incremento no CBM não foi linear, pois o tratamento com o maior número de *Amyntas spp.*  $\text{vaso}^{-1}$  demonstrou valores semelhantes ao tratamento com apenas dois indivíduos  $\text{vaso}^{-1}$ , se mantendo 75% superior, quando comparado ao tratamento sem inoculação de minhocas. Este resultado ocorreu provavelmente pela limitação de recursos na unidade experimental, como C e N, em consequência da menor disponibilidade de MOS para os micro-organismos, efeito causado pela formação de agregados na presença das minhocas (MUMMEY; RILLIG; SIX 2006). Além disso, a menor disponibilidade de nitrogênio resulta na competição entre a planta e a biomassa microbiana do solo, onde as raízes das plantas por possuírem um ciclo de vida superior aos micro-organismos acabam por levar vantagem na disputa por este elemento (HODGE; ROBINSON; FITTER, 2008), limitando assim o impacto das minhocas na BMS. Estes resultados demonstram a velocidade de resposta da BMS às mudanças que ocorrem no solo (POWLSON; BROOKES; CHRISTENSEN, 1987).

A fuga e/ou morte das minhocas no decorrer do experimento, devido aos valores elevados de temperatura (ANEXO 1), também podem ter contribuído para os resultados constatados na CBM.



### 3.3 RESPIRAÇÃO MICROBIANA DO SOLO (RMS)

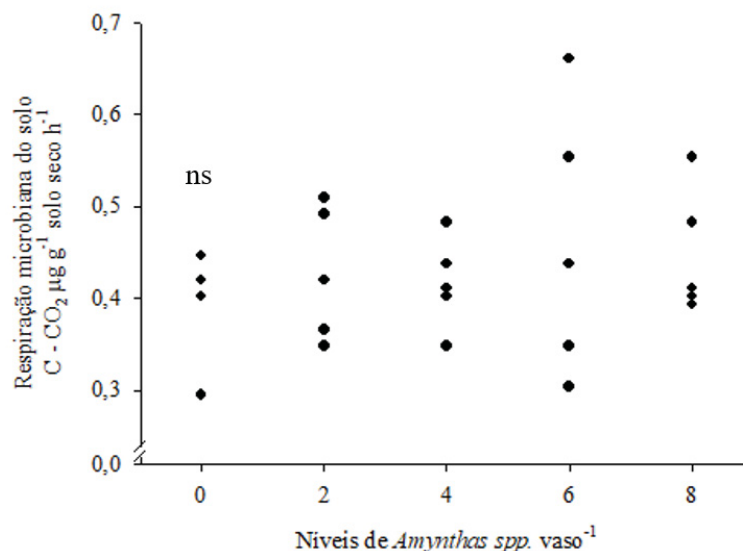
Os valores obtidos para a RMS (FIGURA 5), avaliada na coleta do experimento, aos 91 dias, variaram de 0,37 a 0,46  $\mu\text{g C g}^{-1}$  de solo  $\text{h}^{-1}$  para os tratamentos T1 e T4, respectivamente. Apesar de se observar tendência de aumento, de até 20% na RMS, em função dos níveis de minhocas, a análise de regressão destes dados não demonstrou diferenças significativas entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ). Li et al. (2002) ao avaliarem o impacto da invasão de minhocas exóticas em florestas dos Estados Unidos, observaram que a presença destes animais ocasionou aumentos da RMS entre 20 – 100 % dependendo da profundidade avaliada, atribuindo este efeito a melhor disponibilidade de recursos na presença de minhocas e/ou melhoria das condições abióticas, que limitavam a atividade dos micro-organismos. Resultados semelhantes foram obtidos por Binet, Fayolle e Pussard (1998) quando observaram que a inoculação de *L. terrestris* proporcionaram aumento na RMS superiores a 100%.

A inexistência de diferenças significativas na RMS concomitante com o aumento na BMS, observadas neste trabalho, não indica que os micro-organismos possuíam baixa atividade na presença das minhocas. Segundo Pôrto et al. (2009), valores maiores na evolução de  $\text{CO}_2$  pela comunidade microbiana podem significar que estes indivíduos estão trabalhando em condições não ideais para o seu metabolismo, resultando em maior perda de C do solo para a atmosfera.

Com o aumento observado no CBM (FIGURA 4) se esperava aumento da RMS. Diversos autores observaram que a RMS normalmente acompanha a população de micro-organismos do solo (BALOTA et al., 1998; PÔRTO et al., 2009). Entretanto, D'Andréa et al. (2002) avaliando o impacto de sistemas de manejo na comunidade microbiana, observaram que mesmo havendo variação de 200% da BMS entre os sistemas, a RMS se manteve inalterada, indicando provavelmente a alteração da composição de micro-organismos (ANDERSON; DOMSCH, 1993).

Os efeitos das minhocas na RMS variam conforme os locais estudados, Mclean, Migge-Kleian e Parkinson et al. (2006) destacam que estes dependem da composição da comunidade de micro-organismos, das minhocas e do grau de distúrbio do ambiente.

FIGURA 5 - ANÁLISE DE REGRESSÃO DA RESPIRAÇÃO MICROBIANA DO SOLO E NÍVEIS DE MINHOCAS (*Amyntas spp.*) VASO<sup>-1</sup> NA PRESENÇA DE FITONEMATOIDES (*Meloidogyne javanica*) SOB CULTIVO DO TOMATEIRO (*Lycopersicon esculentum*, VAR. SANTA CRUZ KADA PAULISTA).



FONTE: O autor (2015).

LEGENDA: ns não significativo

### 3.4 COEFICIENTE METABÓLICO (qCO<sub>2</sub>)

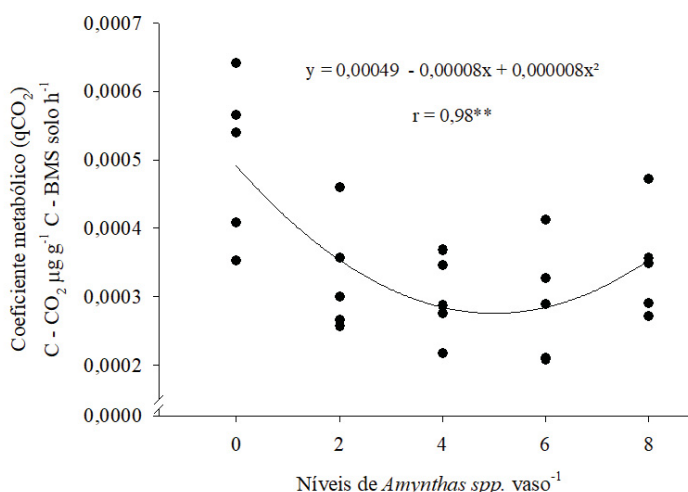
O qCO<sub>2</sub> apresentou comportamento quadrático (FIGURA 6) em função dos níveis de minhocas adicionadas ao solo, os valores variaram entre 0,00050 e 0,00028 C – CO<sub>2</sub> µg g<sup>-1</sup> BMS – C solo h<sup>-1</sup>, para os tratamentos T1 e T4, respectivamente. A análise de regressão revelou um ponto de mínimo para o qCO<sub>2</sub> de 0,00029 C – CO<sub>2</sub> µg g<sup>-1</sup> BMS – C solo h<sup>-1</sup> para o nível de cinco *Amyntas spp.* vaso<sup>-1</sup>, a partir do qual ocorre aumento deste parâmetro em função da elevação do nível de minhocas vaso<sup>-1</sup>.

Os dados obtidos demonstram que a inoculação de seis minhocas vaso<sup>-1</sup> aumentou o CBM, mantendo ou reduzindo a atividade metabólica, indicando que, a presença de minhocas não causou estresse sobre a atividade da BMS. Pois, segundo Anderson e Domsch (1993) o qCO<sub>2</sub> leva em consideração a quantidade de CO<sub>2</sub> emitido pelo solo por unidade de C presente na BMS, portanto, valores inferiores indicam uma comunidade microbiana mais eficiente na fixação de C em

suas células e valores elevados deste parâmetro são observados em sistemas jovens, ainda em transição, ou perturbados.

Efeitos contrários aos obtidos nesta pesquisa foram encontrados por Eisenhauer et al. (2011), ao avaliarem o impacto causado pela invasão de minhocas exóticas (*Dendrobaena octaedra*, *Lumbricus rubellus*, *Aporrectodea spp.*) na comunidade microbiana do solo, pois observaram aumento do  $qCO_2$  quando comparado aos locais não invadidos e atribuíram este efeito ao estresse causado sobre a BMS. Os mesmos autores citam que o aumento do  $qCO_2$  ocorreu pela alteração na composição dos micro-organismos do solo na presença das minhocas, levando assim, determinado tempo até a estabilização deste sistema.

FIGURA 6 - ANÁLISE DE REGRESSÃO DO COEFICIENTE METABÓLICO E NÍVEIS DE MINHOCAS (*Amyntas spp.*) VASO<sup>-1</sup> NA PRESENÇA DE *Meloidogyne javanica*.



FONTE: O autor (2015).

LEGENDA: \*\* Significativo a 1 % de probabilidade

O comportamento do  $qCO_2$  observado neste trabalho sugere que as minhocas alteraram a composição dos micro-organismos do solo, estimulando a população de fungos, concordando com Aira, Monroy e Dominguez (2007). Estes micro-organismos geralmente são os principais formadores da biomassa microbiana do solo, em função da estrutura morfológica, com hifas de elevados comprimento e diâmetro (SIQUEIRA, 1993). Dessa forma superam a biomassa de todos os outros organismos, podendo representar até 5 Mg ha<sup>-1</sup> (ANDERSON; DOMSCH, 1978). Os resultados indicam que o carbono do solo está sendo utilizado para formação de

material celular, ou seja, se acumulando na BMS, que provavelmente é composta em grande parte pelos fungos. Além disso, os fungos são considerados os seres mais importantes na decomposição, principalmente, de materiais de alta relação C/N. Como as minhocas aumentam a agregação do solo (MUMMEY; RILLIG; SIX, 2006), os fungos não são capazes de processar a MOS localizada no interior dos agregados (SIX et al., 2004) e conseqüentemente se tornam menos ativos no solo.

### 3.5 EFEITO DAS MINHOCAS SOBRE O CRESCIMENTO DAS PLANTAS

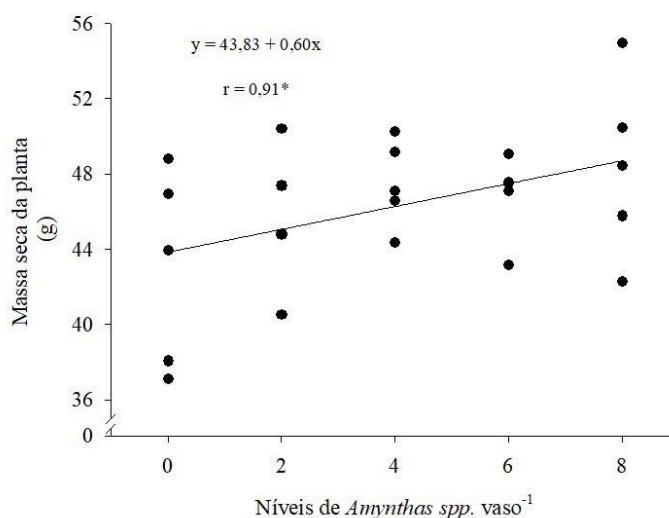
A massa seca da planta (MSP) demonstrou uma tendência linear de aumento com elevação dos níveis de minhocas (FIGURA 7). O maior valor foi de MSP foi 48,38 g planta<sup>-1</sup>, observado no tratamento com o maior nível de *Amyntas spp.* vaso<sup>-1</sup>, e o menor valor de 42,97 g planta<sup>-1</sup> no tratamento controle. Este aumento de 11,2% na MSP, em consequência do acréscimo de minhocas, é decorrente de melhorias dos aspectos químicos, físicos e biológicos do solo (LEE; FOSTER, 1991).

As alterações químicas na presença de minhocas podem ter influenciado no acréscimo da MSP, em função da maior disponibilidade de nutrientes, principalmente P e N, decorrente da aceleração da ciclagem de nutrientes, que é reflexo do aumento da CBM (FIGURA 4). Parkin e Berry (1999) citam que a deposição contínua de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> pela ação das minhocas com a produção dos coprólitos, estimula as bactérias nitrificadoras, aumentando a disponibilidade de nitrogênio para as plantas.

O aumento da MSP observado pode também ser consequência das alterações físicas do solo pela ação das minhocas. Estas modificações ocorrem em função das galerias, as quais são normalmente utilizadas pelas plantas para o crescimento radicular (EDWARDS; BOHLEN, 1996) e facilitam a infiltração de água por todo o perfil do solo (YVAN et al., 2012). Os conjuntos das alterações físico-químicas alteram o componente biológico do solo, estimulando principalmente os micro-organismos (BROWN et al., 2000). Aghababaei, Raiesi e Hosseinpour (2014) observaram que além do estímulo da BMS, minhocas da espécie *L. rubellus*, em casa de vegetação, estimularam a colonização das raízes (*Zea mays*) por fungos micorrízicos arbusculares, organismos responsáveis por aumentarem a área de contato do sistema radicular com o solo, contribuindo para maior absorção de

nutrientes pelas plantas, principalmente o fósforo (STREITWOLF-ENGEL et al., 1997).

FIGURA 7 - ANÁLISE DE REGRESSÃO DA MASSA SECA DO TOMATEIRO (*Lycopersicon esculentum*, VAR. SANTA CRUZ KADA PAULISTA) E NÍVEIS DE MINHOCAS (*Amyntas spp.*) NA PRESENÇA DE *Meloidogyne javanica*.



FONTE: O autor (2015).

LEGENDA: \* Significativo a 5 % de probabilidade

A adição de minhocas pode também ter favorecido o desenvolvimento de rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs), pois esses animais aumentam a aeração do solo (LI et al., 2002) e podem ter estimulado a população *Pseudomonas spp.* fluorescentes (COELHO et al., 2007). Essas RPCPs podem ter influenciado na MSP, pela produção de sideróforos, substâncias quelantes produzidas pelos micro-organismos, que aumentariam a disponibilidade de  $Fe^{2+}$  para as plantas e pela produção de antibióticos que inibiriam os efeitos causados por patógenos clínicos e subclínicos (BRISBANE et al., 1989; FREITAS, 2007).

A análise de correlação foi positiva para CBM e MSPA (TABELA 3), reforçando a importância da BMS no desenvolvimento das plantas. Resultados semelhantes foram observados por Graaff et al. (2006), que atribuíram este efeito a aceleração da ciclagem de nutrientes e, conseqüentemente, maior disponibilidade para as plantas.

O  $qCO_2$  apresentou correlação negativa com o CBM (TABELA 3). Estes resultados indicam que a maiores perdas de  $CO_2$  do sistema ocorreram em função da menor BMS, provavelmente devido ao estresse, que impedia o pleno desenvolvimento dos micro-organismos e resultava em maior atividade metabólica destes seres (GRAHAM; HAYNES; MEYER, 2002). Além disso, a correlação negativa entre  $qCO_2$  e MSPA sugere que o estresse ocorrido na BMS, pode também, afetar o desenvolvimento das plantas (SILVA JUNIOR et al., 2006).

TABELA 3 – COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO (PEARSON) ENTRE RESPIRAÇÃO MICROBIANA (RMS), CARBONO DA BIOMASSA MICROBIANA (CBM), MASSA SECA DA PARTE AÉREA (MSPA), MASSA SECA DAS RAÍZES (MSR), RESPIRAÇÃO EDÁFICA TOTAL (RE TOTAL) E COEFICIENTE METABÓLICO ( $QCO_2$ ).

Fonte de variação	CBM	MSPA	MSR	RE total	$qCO_2$
RMS	0,25	-0,13	-0,04	-0,03	0,36
CBM	-	0,44*	0,18	-0,14	-0,78**
MSPA	-	-	0,25	-0,13	-0,56*
MSR	-	-	-	-0,12	-0,22
RE total	-	-	-	-	0,02

FONTE: O autor (2015).

LEGENDA: \*\*, \* Significativo a 1 e 5 % de probabilidade, respectivamente, ns Não Significativo.

Para os níveis de minhocas utilizados e a variável MSP, não foi atingido o ponto de inflexão da curva, ou seja, não foi possível determinar o número máximo que pode ser inoculado nas unidades experimentais, para que se atinja a máxima produção. Porém, densidades maiores de minhocas podem acarretar superlotação, trazendo efeitos negativos às características físicas do solo. Este efeito foi descrito por Barros et al. (2004) ao avaliarem o impacto da invasão massiva de *Pontoscolex corethrurus* na Amazônia Central, e observarem que altas densidades destes organismos, juntamente com as características do solo encontradas, aumentaram a densidade do solo superficial e afetaram negativamente o crescimento das plantas.

Resultados negativos em função da inoculação de minhocas também foram relatados por Wurst, Dugassa-Gobena e Scheu (2004), ao observarem que a presença de *Aporrectodea caliginosa* e *Octolasion tyrtaeum*, aumentaram a concentração de alguns metabólitos secundários como aucubina e campesterol, em plantas de *Plantago lanceolata*, os quais podem ter estimulado a reprodução de pulgões e, conseqüentemente, aumentado o dano causado às plantas.



### 3.6 EFEITO DAS MINHOCAS SOBRE O SISTEMA RADICULAR E NÚMERO DE GALHAS DE *Meloidogyne javanica*

A variável massa seca do sistema radicular (MSR) não diferiu entre os tratamentos (TABELA 4) ( $\alpha = 0,05$ ), obtendo-se valores médios de 4,38 e 4,36 g para os tratamentos T1 e T5, respectivamente. O efeito das minhocas sobre o desenvolvimento radicular ainda é pouco conhecido. Laossi et al. (2010) encontraram resultados semelhantes no desenvolvimento radicular de leguminosas na presença de minhocas. Os mesmos autores observaram estímulo do crescimento das raízes na presença das minhocas apenas em solos de baixa fertilidade. Os mesmos efeitos são citados por Noguera et al. (2010), que atribuíram este resultado a capacidade das minhocas de estimularem a mineralização da MOS, aumentando a disponibilidade de nutrientes e estimulando o desenvolvimento radicular.

TABELA 4 – ANÁLISE DE REGRESSÃO ENTRE OS NÍVEIS DE *Amyntas spp.* (0, 2, 4, 6 E 8 ANIMAIS VASO<sup>-1</sup>) E A MASSA SECA DAS RAÍZES, RELAÇÃO MSPA/MSR<sup>1</sup> E NÚMERO DE GALHAS DE *MELOIDOGYNE JAVANICA* NA CULTURA DO TOMATEIRO (*Lycopersicon esculentum*, VAR. SANTA CRUZ KADA PAULISTA).

Níveis de <i>Amyntas spp.</i> vaso <sup>-1</sup>	MSR (g)	Relação MSPA/MSR	Nº de galhas
0	4,38 <sup>ns</sup>	8,85 <sup>ns</sup>	1030 <sup>ns</sup>
2	4,38 <sup>ns</sup>	9,49 <sup>ns</sup>	1006 <sup>ns</sup>
4	5,07 <sup>ns</sup>	8,57 <sup>ns</sup>	1152 <sup>ns</sup>
6	4,61 <sup>ns</sup>	9,19 <sup>ns</sup>	1158 <sup>ns</sup>
8	4,36 <sup>ns</sup>	10,27 <sup>ns</sup>	1021 <sup>ns</sup>
CV (%)	11,76	14,13	15,09

FONTE: O autor (2015).

LEGENDA: <sup>1</sup> Relação entre massa seca da parte aérea e massa seca do sistema radicular, <sup>ns</sup> Não significativo

A relação entre a MSPA e a MSR não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos (TABELA 4), os dados obtidos variaram entre 8,85, 8,57 e 10,27 para os níveis 0, 4 e 8 animais vaso<sup>-1</sup>, respectivamente. Este efeito é provavelmente explicado pela resposta fisiológica das plantas, como não existe limitação de recursos, água e nutrientes, não existe necessidade de maior desenvolvimento do sistema radicular (BELL; SUTAN, 1999).

O número de galhas não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos (TABELA 4), demonstrando que o fitonematoide *M. javanica* realmente

apresenta elevada capacidade de parasitar as raízes do tomateiro. Nas condições de realização da pesquisa (gênero *Amyntas*, plantas de tomate var. Santa Cruz Kada Paulista, fitonematoide *M. javanica*), as minhocas não foram capazes suprimir a população de nematoides, formadores de galhas, inoculados no solo.

A não supressão dos nematoides, constatada pelo número de galhas do sistema radicular em função dos níveis de *Amyntas spp.*, pode ser interpretada de duas maneiras distintas, seletividade na alimentação das minhocas ou ineficiência do sistema digestivo das minhocas.

Os nematoides, ao contrário dos fungos, não são considerados essenciais na alimentação destes oligoquetos (BONKOWSKI et al., 2000), portanto, a sua ingestão é considerada acidental. As minhocas adultas, normalmente, ingerem o equivalente ao seu peso de solo dia<sup>-1</sup> (EDWARDS; BOHLEN, 1996). No tratamento com o maior número de *Amyntas spp.*, a biomassa total vaso<sup>-1</sup> inoculada foi em média de 10,4 g, conseqüentemente, o máximo de solo que poderia ser ingerido por dia não ultrapassou muito este valor. Segundo Cortada et al. (2008) a infecção por *M. javanica* ocorre nos primeiros sete dias após a inoculação deste fitonematoide, e neste período as minhocas poderiam ter ingerido apenas 91,1 g de solo, do total de 3 kg, o que representa apenas 3,04% do contido nas unidades experimentais.

Caso a ingestão dos nematoides tenha ocorrido, estes podem não ter sido digeridos devido à baixa eficiência do sistema digestivo das minhocas (EDWARDS; BOHLEN, 1996). Além disso, os ovos destes nematoides são extremamente resistentes, sendo capazes de permanecer no solo durante vários meses (DAULTON; NUSBAUM, 1961) e resistirem à passagem pelo trato digestivo das minhocas.

A baixa taxa de remanescência das minhocas detectada no final do experimento, provavelmente não interferiu nos resultados constatados (formação de galhas), pois não foram observadas condições adversas que poderiam ter estimulado a evasão de *Amyntas spp.* no período de infecção do tomateiro pelos nematoides.

Diversos autores obtiveram resultados contraditórios quanto ao efeito das minhocas sobre a população de nematoides (MAKULEC; MAKULEC, 2002; DOMÍNGUEZ; PARMELEE; EDWARDS, 2003; LAFONT et al., 2007; DIONÍSIO et al., 2014), portanto, tal interação ainda é pouco compreendida, variando conforme tipo de solo, espécies de planta, nematoide e minhoca estudadas.

Apesar de não ter sido constatada a redução do número de galhas, observa-se diminuição do estresse decorrente do ataque dos fitonematoides nas plantas, já observado na massa seca da planta (FIGURA 7), demonstrando que presença de minhocas no solo foi capaz de compensar em parte o dano causado por *M. javanica*. Lafont et al. (2007) observaram efeito similar de *P. corethrurus* no crescimento de bananeiras na presença de nematoides fitoparasitas cavernícolas (*Radopholus similis*), atribuindo este efeito a maior biodisponibilidade de N, além de outros nutrientes, como, Ca e Mg.

## 4 CONCLUSÕES

Nas condições em que o trabalho foi realizado pode-se concluir que:

A inoculação de *Amyntas spp.* no solo não suprime a formação de galhas de *M. javanica* na cultura do tomateiro.

A inoculação de *Amyntas spp.* no solo proporciona um aumento na matéria seca do tomateiro apesar do elevado número de galhas nas raízes e não elevação da matéria seca do sistema radicular.

O aumento na liberação de CO<sub>2</sub>, em função de *Amyntas spp.* no solo, não afeta a respiração edáfica total.

O CBM se eleva com o aumento do número de minhocas no solo e atinge um ponto máximo com 5,2 organismos vaso<sup>-1</sup>.

O qCO<sub>2</sub> diminui com o aumento do número de minhocas no solo, apresentando o ponto de mínimo para cinco animais vaso<sup>-1</sup>.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para pesquisas futuras, sugere-se que os experimentos sejam realizados em ambientes controlados, para evitar variações extremas na temperatura do ar.

A inoculação dos nematoides deve ser realizada preferencialmente em todo o solo, aumentando assim, o contato entre as minhocas e os fitonematoídes. A utilização de solo naturalmente contaminado por nematoides, também, é uma alternativa para uniformizar a distribuição destes animais.

A avaliação de rizobactérias promotoras do crescimento das plantas e a taxa de colonização das raízes por fungos micorrízicos podem ajudar a elucidar os efeitos das minhocas no desenvolvimento das plantas.

## REFERÊNCIAS

- AGHABABAEI, F.; RAIESI, F.; HOSSEINPUR, A. The combined effects of earthworms and arbuscular mycorrhizal fungi on microbial biomass and enzyme activities in a calcareous soil spiked with cadmium. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 75, n. 1, p. 33-42, 2014.
- AIRA, M.; MONROY, F.; DOMINGUEZ, J. Effects of two species of earthworms (*Allolobophora* spp.) on soil systems: a microfaunal and biochemical analysis. **Pedobiologia**, Amsterdam, v. 47, n. 5-6, p. 877-881, 2003.
- AIRA, M.; MONROY, F.; DOMINGUEZ, J. *Eisenia fetida* (Oligochaeta: Lumbricidae) modifies the structure and physiological capabilities of microbial communities improving carbon mineralization during vermicomposting of pig manure. **Microbial Ecology**, Cambridge, v. 54, n. 4, p. 662-671, 2007.
- ALEF, K. Soil Respiration. In: ALEF, K.; NANNIPIERI, P. (Ed.). **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. London: Academic Press Limited, 1995. p. 225-227.
- AL-MALI, S.; SCULLION, J. Interactions between earthworms and residues of differing quality affecting aggregate stability and microbial dynamics. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 64, n. 1, p. 56-62, 2013.
- ANDERSON, J. P. E. Soil respiration. In: PAGE, A. L.; MILLER, R. H.; KEENEY, D. R. (Ed.). **Methods of soil analysis**. 2nd ed. Madison: Wisconsin: Soil Science Society of America, 1982. p. 831-866.
- ANDERSON, J. P. E.; DOMSCH, K. H. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 10, n. 3, p. 215-221, 1978.
- ANDERSON, T. H.; DOMSCH, K. H. The metabolic quotient for CO<sub>2</sub> (qCO<sub>2</sub>) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 25, n. 3, p. 393-395, 1993.
- BALOTA, E. L.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D. S.; HUNGRIA, M. Biomassa Microbiana e sua atividade em solos sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 22, n. 1, p. 641-649, 1998.
- BALSER, T. C.; WIXON, D. L. Investigating biological control over soil carbon temperature sensitivity. **Global Change Biology**, Nova Jersey, v. 15, n. 1, p. 2935-2949, 2009.
- BARROS, E.; GRIMALDI, M.; SARRAZIN.; CHAUVEL, A.; MITJA, D.; DESJARDINS, T.; LAVELLE, P. Soil physical degradation and changes in macrofaunal communities in Central Amazon. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 26, n. 2, p. 157-168, 2004.

BELAN, L. L.; ALVES, F. R.; COSTA, D. C.; FONSECA, S. O.; MORAES, W. B.; SOUZA, A. F.; JESUS, W. C. J. Efeitos de densidades crescentes de inóculo de *Meloidogyne javanica* no desenvolvimento vegetativo de genótipos de tomateiro cereja. **Revista Trópica - Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadinha, v. 5, n. 1, p. 22-30, 2011.

BELL, D. L.; SULTAN, S. E. Dynamic phenotypic plasticity for root growth in *Polygonum*: a comparative study. **American Journal of Botany**, St. Louis, v. 86, n. 6, p. 807-819, 1999.

BINET, F.; FAYOLLE, L.; PUSSARD, M. Significance of earthworms in stimulating soil microbial activity. **Biology and Fertility of Soils**, Florence, v. 27, n. 1, p. 79-84, 1998.

BONETTI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificações do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 6, n. 1, p. 553-558, 1981.

BONKOWSKI, M.; CHENG, W.; GRIFFITHS, B. S.; ALPHEI, J.; SCHEU, S. Microbial-faunal interactions in the rhizosphere and effects on plant growth. **European Journal of Soil Biology**, Paris, v. 36, n. 1, p. 135-147, 2000.

BRISBANE, P. G.; HARRIS, J. R.; MOEN, R. Inhibition of fungi from wheat roots by *Pseudomonas fluorescens* and fungicides. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 21, n. 1, p. 1019-1025, 1989.

BROWN, G. G. How do earthworms affect microfloral and faunal community diversity?. **Plant and Soil**, Zurique, v. 170, n. 1, p. 209-231, 1995.

BROWN, G. G.; BAROIS, I.; LAVELLE, P. Regulation of soil organic matter dynamics and microbial activity in the drilosphere and the role of interactions with other edaphic functional domains. **European Journal of Soil Biology**, Paris, v. 36, n. 3-4, p. 177-198, 2000.

BROWN, G. G.; JAMES, S. W.; PASINI, A.; NUNES, D. H.; BENITO, N. P.; MARTINS, P. T.; SAUTTER, K. D. Exotic, peregrine, and invasive earthworms in Brazil: diversity, distribution, and effects on soils and plants. **Caribbean Journal of Science**, Puerto Rico, v. 42, n. 3, p. 339-358, 2006.

BOSSUYT, H.; SIX, J.; HENDIX, P. F. Protection of soil carbon by microaggregates within earthworm casts. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 37, n. 1, p. 251-258, 2004.

CHAVES, A. L. **A cultura do tomate**, 2006. Disponível em <[http://www.conab.gov.br/conabweb/download/cas/especiais/Tomate\\_21\\_08\\_2006.pdf](http://www.conab.gov.br/conabweb/download/cas/especiais/Tomate_21_08_2006.pdf)>. Acesso em 01 abr. 2015.

CHARCHAR, J. M.; ARAGÃO, F. A. S. Reprodução de *Meloidogyne* spp. em cultivares de tomate e pepino sob estufa plástica e campo. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 29, n. 2, p. 243-249, 2005.

COELHO, L. F.; FREITAS, S. S.; MELO, A. M. T.; AMBROSANO, G. M. B. Interação de bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas* e de *Bacillus* spp. com a rizosfera de diferentes plantas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 31, n. 6, p. 1413- 1420, 2007.

COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO - RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. 10 ed. Porto Alegre: SBRS - Núcleo Regional Sul/UFRGS, 2004.

CORTADA, L.; SORRIBAS, F. J.; ORNAT, C.; KALOSHIAN, I.; VERDEJO-LUCAS, S. Variability in infection and reproduction of *Meloidogyne javanica* on tomato rootstocks with the Mi resistance gene. **Plant Pathology**, Malden, v. 57, n. 6, p. 1125-1135, 2008.

D'ANDRÉA, A. F.; SILVA, M. L. N.; CURTI, N.; SIQUEIRA, J. O.; CARNEIRO, M. A. C. Atributos biológicos indicadores da qualidade do solo em sistemas de manejo na região do cerrado no sul do Estado de Goiás. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 26, n. 1, p. 913-923, 2002.

DAULTON, R. A. C.; NUSBAUM, C. J. The Effect of Soil Temperature On the Survival of the Root-Knot (Nematodes *Meloidogyne javanica* and *M. hapla* 1). **Nematologica**, Leiden, v. 6, n. 1, p. 280-294, 1961.

DECAËNS, T.; RANGEL, A. F.; ASAKAWA, N.; THOMAS, R. J. Carbon and nitrogen dynamics in ageing earthworm casts in grasslands of the eastern plains of Colombia. *Biology and Fertility of Soils*, **Florence**, v. 30, n. 1-2, p. 20-28, 1999.

DEROUARD, L.; TONDOH, J.; VILCOSQUI, L.; LAVELLE, P. Effects of earthworm introduction on soil processes and plant growth. **Soil biology and Biochemistry**, Oxford, v. 29, n. 1, p. 541-545, 1997.

DIONÍSIO, J. A.; LUNARDI, M. F.; MACEDA, A.; KUSDRA, J. F. Como reduzir o número de galhas de *Meloidogyne paranaensis* em raízes de tomateiro usando minhocas? **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 2, p. 781-786, 2014.

DOMÍNGUEZ, J.; PARMELEE, R. W.; EDWARDS, C. A. Interactions between *Eisenia andrei* (Oligochaeta) and nematode populations during vermicomposting. **Pedobiologia**, Amsterdam, v. 47, n. 1, p. 53-60, 2003.

DU, Y. L.; HE, M. M.; XU, M.; YAN, Z. G.; ZHOU, Y. Y.; GUO, G. L.; NIE, J.; WANG, L. Q.; HOU, H.; LI, F. S. Interactive effects between earthworms and maize plants on the accumulation and toxicity of soil cadmium. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 72, n. 1, p. 193- 202, 2014.

EDWARDS, C. A.; BOHLEN, P. J. (Ed.). **Biology and ecology of earthworms**. 3. ed. London: Chapman and Hall, 1996. 426 p.



EISENHAUER, N.; SCHLAGHAMERKÝ, J.; REICH, P. B.; FRELICH, L. E. The wave towards a new steady state: Effects of earthworm invasion on soil microbial functions. **Biological Invasions**, Knoxville, v. 13, n. 10, p. 2191-2196, 2011.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Manual de métodos de análise de solo**. 2 ed. rev. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2011.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2013.

FRANCHINI, J. C.; CRISPINO, C. C.; SOUZA, R. A.; TORRES, E.; HUNGRIA, M. Microbiological parameters as indicators of soil quality under various tillage and crop-rotation systems in southern Brazil. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 92, n. 1, p. 18-29, 2007.

FREITAS, S. Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas. In: SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS, S. S. (Ed.). **Microbiota do solo e qualidade**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2007. p. 1-20.

GRAAFF, M. A.; GROENIGEN, K. J. V.; SIX, J.; HUNGATE, B.; KESSEL, C. V. Interactions between plant growth and soil nutrient cycling under elevated CO<sub>2</sub>: a meta-analysis. **Global Change Biology**, Malden, v.212, n. 11, p. 2077-2091, 2006.

GRAHAM, M. H.; HAYNES, R. J.; MEYER, J. H. Changes in soil chemistry and aggregate stability induced by fertilizer applications, burning and trash retention on a long-term sugarcane experiment in South Africa. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 34, n. 1, p. 93-102, 2002.

GRISI, B. M. Método químico de medição da respiração edáfica: alguns aspectos técnicos. **Ciência e Cultura**, Campinas, v. 30, n. 1, p. 82-88, 1978.

HARTMAN, W. H.; RICHARDSON, C. J. Differential nutrient limitation of soil microbial biomass and metabolic quotients (qCO<sub>2</sub>): is there a biological stoichiometry of soil microbes? **PLoS ONE**, San Francisco, v. 8, n. 3, p. 1-14, 2013.

HODGE, A.; ROBINSON, D.; FITTER, A. Are microorganisms more effective than plants at competing for nitrogen?. **Trends in Plant Science**, Amsterdam, v. 5, n. 1, p. 304-308, 2008.

HÖPER, H. Substrate-induced respiration. In: BLOEM, D. H.; BENEDETTI, A. (Ed.). **Microbiological methods for assessing soil quality**. Wallingford: CABI Publishing, 2006. p. 84-92.

HUANG, Z.; WAN, X.; HE, Z.; YU, Z.; WANG, M.; HU, Z.; YANG, Y. Soil microbial biomass, community composition and soil nitrogen cycling in relation to tree species in subtropical China. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 62, n. 1, p. 68-75, 2013.

HYVÖNEN, R.; ANDERSSON, S.; CLARHOLM, M.; PERSSON, T. Effects of lumbricids and enchytraeids on nematodes in limed and unlimed coniferous mor humus. **Biology and Fertility of Soils**, Oxford, v.17, n.1, p. 201-205.

MAKULEC, K.; MAKULEC, G. Effect of the earthworm *Lumbricus rubellus* on the nematode community in a peat meadow soil. **European Journal of Soil Biology**, Paris, v. 38, n. 1, p. 59-62, 2002.

LAFONT, A.; RISÈDE, J. M.; LORANGER- MERCIRIS, G.; CLERMONT-DAUPHIN, C.; DOREL, M.; RHINO, B.; LAVELLE, P. Effects of the earthworm *Pontoscolex corethrurus* on banana plants infected or not with the plant-parasitic nematode *Radophulus similis*. **Pedobiologia**, Amsterdam, v. 51, n. 4, p. 311-318, 2007.

LAOSSI, K. R.; GINOT, A.; NOGUERA, D.; BLOUIN, M.; BAROT, S. Earthworm effects on plant growth do not necessarily decrease with soil fertility. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 328, n. 1-2, p. 109-118, 2010.

LAVELLE, P.; BIGNELL, D.; LEPAGE, M.; WOLTERS, V.; ROGER, P.; INESON, P.; HEAL, O W.; DHILLION, S. Soil function in a changing world: the role of invertebrate ecosystem engineers. **European Journal of Soil Biology**, Paris, v. 33, n. 4, p. 159-193, 1997.

LEE, K. E. Earthworms: **Their ecology and relations with soils and land use**. London: Academic Press, 1985.

LEE, K. E.; FOSTER, R. C. Soil fauna and soil structure. **Australian Journal of Soil Research**, Clayton, v. 29, n.1, p. 745-775, 1991.

LI, X.; FISK, M. C.; FAHEY, T. J.; BOHLEN, P. J. Influence of earthworm invasion on soil microbial biomass and activity in a northern hardwood forest. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 34, n. 1, p. 1929-1937, 2002.

MARQUES, R.; MOTTA, A. C. V. Análise química do solo para fins de fertilidade. In: LIMA, M. R. de., ed. **Manual de diagnóstico da fertilidade e manejo dos solos agrícolas**. 2.ed. Curitiba: Departamento de Solos e Engenharia Agrícola, 2003. p. 81-102.

MARHAN, S.; LANGE, R.; KANDELER, E.; SCHEU, S. Use of stable isotopes ( $^{13}\text{C}$ ) for studying the mobilisation of old soil organic carbon by endogeic earthworms (Lumbricidae). **European Journal of Soil Biology**, Paris, v. 43, n. 1, p. S201-S202, 2007.

MCLEAN, M. A.; MIGGE-KLEIAN, S.; PARKINSON, D. Earthworm invasions of ecosystems devoid of earthworms: effects on soil microbes. **Biological Invasions**, Berlin, v. 8, n. 1, p. 1257-1273, 2006.

MEDINA, I. L.; GOMES, C. B.; ROSSI, C.; CARNEIRO, R. M. G. D. Caracterização e Identificação de Populações de Nematóides de Galhas provenientes de Figueiras (*Ficus carica* L.) do Rio Grande do Sul e São Paulo. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 30, n. 1, p. 179-187, 2006.

MÔNACO, A. P. A.; KRANZ, W. M.; GOMES, J. C.; SCHERER, A.; NAKAMURA, K. C.; MORITZ, M. P.; SANTIAGO, D. C. Reação de espécies de plantas daninhas a *Meloidogyne incognita* raças 1 e 3, a *M. javanica* e a *M. paranaensis*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 32, n. 4, p. 235-242, 2008.

MONTEIRO, R. T. R.; FRIGHETTO, R. T. S. Determinação da umidade, pH e capacidade de retenção de água do solo. In: Frighetto, R. T. S.; Valarini, P. J. (Coords.). **Indicadores biológicos e bioquímicos da qualidade do solo: manual técnico**. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, 2000. p. 3-39.

MOREIRA, F. J. C.; FERREIRA, A. C. D. S. Controle alternativo de nematoide das galhas (*Meloidogyne enterolobii*) com cravo de defunto (*Tagetes patula* L.), incorporado ao solo. **Holos**, Natal, v. 31, n. 1, p. 99-110, 2015.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e biotecnologia do solo**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. 729 p.

MUMMEY, D. L.; RILLIG, M. C.; SIX, J. Endogeic earthworms differentially influence bacterial communities associated with different soil aggregate size fractions. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 38, n. 7, p. 1608-1614, 2006.

NANNIPIERI, P.; ASCHER, J.; CECCHERINI, M. T.; LANDI, L.; PIETRAMELLARA, G.; RENELLA, G. Microbial diversity and soil functions. **European Journal of Soil Science**, New Jersey, v. 54, n. 1, p. 655-670, 2003.

NEVES, W. S.; FREITAS, L. G.; COSTA, M. D.; ALMEIDA, V. S.; FERRAZ, S. Controle de *Meloidogyne javanica* pelo uso de bactérias isoladas de solo biofumigado com resíduos de diferentes espécies de Brássicas. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 33, n. 2, p. 132-138, 2009.

NOGUERA, D.; RO-NDÓN, M.; LAOSSI, K.; HOYOS, V.; LAVELLE, P.; CARVALHO, M. H. C.; BAROT, S. Contrasted effect of biochar and earthworms on Rice growth and resource allocation in different soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 42, n. 1, p. 1017-1027, 2010.

PARKIN, T. B.; BERRY, E. C. Microbial nitrogen transformations in earthworm burrows. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 31, n. 13, p. 1765-1771, 1999.

PÉRÈS, G.; BELLIDO, A.; CURMI, P.; MARMONIER, P.; CLUZEAU, D. Relationships between earthworm communities and burrow number under different land use systems. **Pedobiologia**, Amsterdam, v. 54, n. 1, p. 37-44, 2010.

PIETIKAINEN, J.; PETTERSSON, M.; BAATH, E. Comparison of temperature effects on soil respiration and bacterial and fungal growth rates. **FEMS Microbiology Ecology**, New Jersey, v. 52, n. 1, p. 49-58, 2005.

PÔRTO, M. L.; ALVES, J. C.; DINIZ, A. A.; SOUZA, A. P.; SANTOS, D. Indicadores biológicos de qualidade do solo em diferentes sistemas de uso no Brejo Paraibano. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 4, p. 1011- 1017, 2009.

- POWLSON, D. S.; BROOKES, P. C.; CHRISTENSEN, B. T. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 19, n. 1, p. 159-164, 1987.
- RADWAN, M. A.; FARRAG, S. A. A.; ABU- ELAMAYEM, M. M.; AHMED, N. S. Biological control of the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on tomato using bioproducts of microbial origin. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 56, n. 1, p. 58-62, 2012.
- RÄTY, M.; HUHTA, V. Earthworms and pH affect communities of nematodes and enchytraeids in forest soil. **Biology and Fertility of Soils**, Zurique, v. 38, n. 1, p. 52-58, 2003.
- SANTOS, V. B.; CASTILHOS, D. D.; CASTILHOS, R. M. V.; PAULETTO, E. A.; GOMES, A. S.; SILVA, D. G. Biomassa, atividade microbiana e teores de carbono e nitrogênio totais de um planossolo sob diferentes sistemas de manejo. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 10, n. 3, p. 333-338, 2004.
- SELDEN, P.; DUPONTE, M.; SIPES, B.; DINGES, K. Composting worms for Hawaii. College of Tropical Agriculture and Human Resources, **Honolulu**, v. HG-46, n. 1, p. 1-2, 2005.
- SILVA JÚNIOR, J. M. T.; GOMES, V. F. F.; MENDES FILHO, P. F. Atividade microbiana e desenvolvimento do melão cultivado sob diferentes proporções de pó de coco. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 19, n. 4, p. 369-376, 2006.
- SIMEK, M.; PIZL, V. Soil CO<sub>2</sub> flux affected by *Aporrectodea caliginosa* earthworms. **Central European Journal of Biology**, Paris, v. 5, n. 3, p. 364-370, 2010.
- SIMS, R. W.; GERARD, B. M. Earthworms. In: KERMACK, D. M.; BARNES, R. S. K. (Ed.). **Synopses of the british fauna (new series)**. London: Field Studies Council, 1999. p. 8-169.
- SMITH, J. L.; PAUL, E. A. The significance of soil microbial biomass estimations. In: BOLLAG, J.; STOTZKY, D. G., eds. **Soil biochemistry**. 1<sup>st</sup> ed. New York: M. Dekker, 1990.
- SNYDER, B. A.; BOOTS, B.; HENDRIX, P. F. Competition between invasive earthworms (*Amyntas corticis*, Megascolecidae) and native North American millipedes (*Pseudopolydesmus erasus*, Polydesmidae): effects on carbon cycling and soil structure. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 41, n. 7, p. 1442-1449, 2009.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO - SBCS. **Manual de adubação e de calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. 10. ed. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2004.

SOLLINS, P.; HOMANN, P.; CALDWELL, B. A. Stabilization and destabilization of soil organic matter: Mechanisms and controls. **Geoderma**, Amsterdam, v. 74, n. 1-2, p. 65-105, 1996.

STEPHENS, P. M.; DAVOREN, C. W. Influence of the earthworms *Aporrectodea trapezoides* and *A. rosea* on the disease severity of *Rhizoctonia solani* on subterranean clover and ryegrass. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 29, n. 3-4, p. 511-516, 1997.

STOTZKY, G. Microbial respiration. In: BLACK, C. A. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy, 1965. p. 1550-1572.

STREITWOLF-ENGEL, R.; BOLLER, T.; WIEMKEN, A.; SANDERS, I. R. Clonal growth traits of two *Prunella* species are determined by co-occurring arbuscular mycorrhizal fungi from a calcareous grassland. **Journal of Ecology**, New Jersey, v. 85, n. 1, p. 181-191, 1997.

WURST, S.; DUGASSA-GOBENA, D.; SCHEU, S. Earthworms and litter distribution affect plant-defensive chemistry. **Journal of Chemical Ecology**, Zurich, v. 30, n. 4, p. 691-701, 2004.

YVAN, C.; STÉPHANE, S.; STÉPHANE, C.; PIERRE, B.; GUY, R.; HUBERT, B. Role of earthworms in regenerating soil structure after compaction in reduced tillage systems. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 55, n. 1, p. 93-103, 2012.

ZHAO, Z. M.; ZHAO, G. Y.; YILIHAMU, Y.; LI, J. Y.; JUN, L. Contribution of root respiration to total soil respiration in a cotton field of Northwest China. **Pedosphere**, Beijing, v. 23, n. 2, p. 223-228, 2013.

ZIBILSKE, L. M. Carbon mineralization. In: WEAVER, R. W.; SCOTT, A.; BOTTOMLEY, P. J., eds. **Methods of soil analysis: microbiological and biochemical properties**. Madison: Soil Science Society of America, 1994. p. 10-35.

ZIEGLER, F.; ZECH, W. Formation of water-stable aggregates through the action of earthworms: Implications from laboratory experiments. **Pedobiologia**, Amsterdam, v. 36, n. 1, p. 91-96, 1992.

ZUCKERMAN, B. M.; ESNARD, J. Biological control of plant nematodes current status and hypothesis. **Japanese Journal of Nematology**, Tsukuba, v. 24, n. 1., p. 1-13, 1994.

**ANEXO 1 – TEMPERATURAS DO AR<sup>1</sup> E DO SOLO (°C)**  
**CORRESPONDENTES AO PERÍODO DE LEITURA DA RESPIRAÇÃO EDÁFICA**

Data	Ar*			Solo**
	Mín	Med	Max	
08/09/2014	13,2	19,2	27,0	21,5
09/09/2014	14,0	20,2	27,7	X
10/09/2014	12,7	22,2	28,7	X
11/09/2014	15,5	19,3	26,2	X
12/09/2014	14,4	17,5	24,0	26,2
13/09/2014	13,3	19,5	29,8	X
14/09/2014	11,8	20,1	29,3	X
15/09/2014	16,0	19,8	24,4	29,3
18/09/2014	10,7	15,3	19,1	20,6
24/09/2014	13,1	15,0	23,0	26,7
27/09/2014	13,5	15,0	17,4	21,0
01/10/2014	14,1	19,7	26,7	X
02/10/2014	10,5	13,7	17,3	26,7
06/10/2014	11,0	14,7	21,7	17,3
08/10/2014	14,0	18,2	26,1	X
09/10/2014	12,8	20,5	29,0	X
10/10/2014	14,2	23,1	32,3	29,0
11/10/2014	15,8	23,0	33,1	X
12/10/2014	15,8	24,3	33,3	X
13/10/2014	17,7	24,8	34,8	X
14/10/2014	18,0	21,6	31,3	34,8
16/10/2014	16,3	21,7	31,7	X
17/10/2014	16,4	20,9	35,3	X
19/10/2014	15,1	19,4	30,9	25,2
25/10/2014	16,1	19,7	25,6	X
26/10/2014	15,3	19,9	27,8	26,5
28/10/2014	12,9	20,1	29,0	X
29/10/2014	14,7	20,8	30,4	X
30/10/2014	18,7	24,1	32,8	X
31/10/2014	18,6	23,2	30,5	X

Fonte: O Author (2015).

LEGENDA: <sup>1</sup> Valores correspondentes apenas aos dias onde a temperatura máxima esteve superior a 25 °C,

\*Dados obtidos da Estação Climatológica do SIMEPAR (Centro Politécnico da UFPR – Curitiba – Paraná - Brasil), \*\* Média geral de todas as unidades experimentais no momento da leitura da RE, x Dados inexistentes.